

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 80—84, Januar 1970

Glykoprotein-Isolierung aus dem Magensekret¹⁾

Von D. KUHN und H. WEICKER

*Aus der S. J. Thannhauser-Abteilung für Stoffwechseluntersuchungen
(Vorstand: Prof. Dr. H. Weicker) der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Heidelberg*

(Komm. Direktor: Prof. Dr. E. Kuhn)

(Eingegangen am 4. September 1969)

Die Zuckerkomponenten und der Proteinanteil des Magenschleims und Magensaftes wurden im nicht-dialysierbaren, lyophilisierten Material untersucht. Aus der Ausgangssubstanz des Magensaftes konnte durch Phenol-Wasser-Extraktion und Sephadex-Gel-Filtration ein neuraminsäurereiches, fucosehaltiges Glykoproteingemisch isoliert werden. Die Sekretion und die chemische Zusammensetzung dieser Glykoproteine wird, wie vergleichende Untersuchungen im Basalsekret und nach Stimulation der Magensäuresekretion erkennen lassen, durch vermehrt vorhandene Säure nicht beeinflusst. Es wird diskutiert, daß derartige Untersuchungen an den Glykoproteinen des Magensekretes zur Klärung noch offener Fragen bei der Ulcus-Entstehung beitragen können.

The isolation of glycoprotein from gastric secretion

The sugar and protein components were studied in the non-dialysable, lyophilised material from the gastric mucus and gastric juice. A neuraminic acid-rich, fucose-containing glycoprotein mixture was isolated from the starting material of the gastric juice by phenol-water extraction and Sephadex gel filtration. Comparative studies with the basal secretion and after stimulation of the gastric acid secretion showed that the secretion and chemical composition of this glycoprotein is not influenced by increased amounts of acid in the stomach. It is suggested that such studies on the glycoproteins of the gastric secretion can aid the investigation of unsolved problems of the origin of ulcers.

Die großmolekularen, nicht-dialysierbaren Schleimsubstanzen des Magensekretes entstammen verschiedenen Zellen der Magenschleimhaut (Cardia-, Fundus- und Pyloruszellen) (1). Man unterscheidet nach WEBSTER und KOMAROV (2) zwischen dem sichtbaren sehr viskösen Magenschleim und denjenigen Schleimsubstanzen, die gelöst im Magensaft vorliegen, aus dem sie mit Hilfe von Zentrifugation und Filtration nur teilweise entfernt werden können. Hinsichtlich ihrer Funktion ist zu unterscheiden zwischen ihren biologischen Aufgaben als Enzyme und ihrer Bedeutung als Mucoschutz. Die Schutzfunktion gegenüber chemischen (Salzsäure und Pepsin) und mechanischen Einwirkungen (Speisen, Peristaltik) erfüllen diese Substanzen durch ihre besonderen physiko-chemischen und chemischen Eigenschaften. So verhindert die große Klebfähigkeit des Magenschleims (3, 4) eine zu schnelle Loslösung von der Unterfläche auf mechanischem Wege, die zwischen den einzelnen Molekülen wirkenden Kohäsionskräfte gewährleisten eine geschlossene Schleimschicht (5) und bestimmen die hohe Viskosität des Magenschleims. Diese ist vom pH abhängig. Sie ist am größten bei pH 4,6 und fällt zur sauren und alkalischen Seite hin ab (5—9). Die Widerstandskraft der großmolekularen kohlenhydratreichen Proteine im Magensekret gegenüber der Einwirkung von Pepsin und Salzsäure (10) scheint der Grund dafür zu sein, daß unter normalen Bedingungen keine Andauung der Magenwand stattfindet.

Seit langem wird vermutet, daß quantitative und qualitative Änderungen der Schleimsubstanzen bei der Entstehung von Magenwandläsionen eine Rolle spielen

können. Eine gewisse Bestätigung erbrachten neuere tierexperimentelle Untersuchungen (10—15). In Modellversuchen konnten unter Verwendung von ulcuserzeugenden bzw. ulcusfördernden Pharmaka wie z. B. Phenylbutazon, Indomethazin und Cortison Änderungen der Schleimzusammensetzung im Magensekret nachgewiesen werden.

Ziel unserer Untersuchungen war, festzustellen, ob derartige Befunde auch beim Menschen zu erheben sind. Um dies zu klären, mußte zunächst eine entsprechende Versuchsanordnung zur quantitativen Erfassung und qualitativen Charakterisierung der großmolekularen, nicht-dialysierbaren Substanzen im Magensekret ausgearbeitet werden. Zweitens sollte festgestellt werden, ob Unterschiede zwischen den großmolekularen Substanzen des Magensaftes und denen des Magenschleims bestehen und schließlich interessierte für die klinischen Fragestellungen, ob die Stimulation der Säuresekretion einen Einfluß auf die Zusammensetzung der großmolekularen Substanzen hat. Hierzu wurden die Analysenergebnisse des Basalsekretes mit denen des Sekretes nach Stimulation der Säuresekretion verglichen.

Material und Methoden

Gewinnung der Ausgangssubstanz

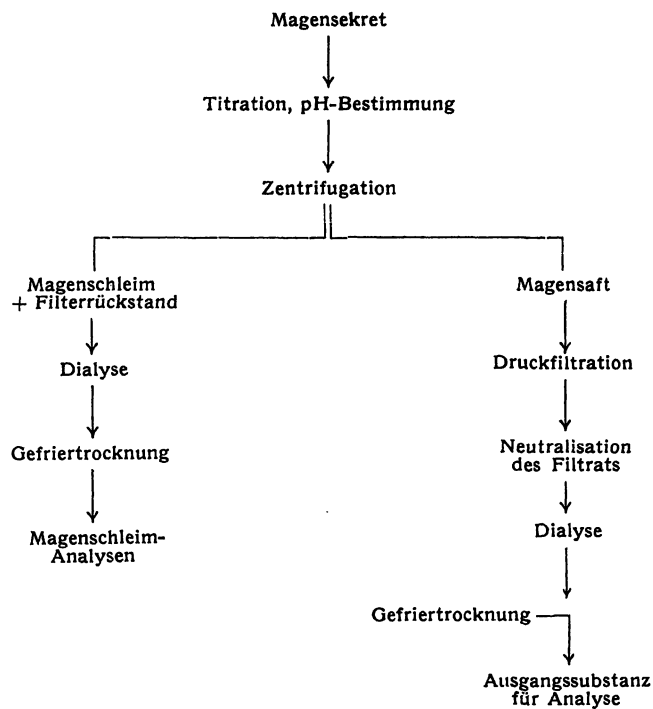
Das Magensekret wurde beim nüchternen Patienten in typischer Weise durch eine dünne Sonde gewonnen, deren regelrechte Lage röntgenologisch überprüft wurde. Nach Verwerfen des Nüchternsekrets wurde zunächst für 30 Min. Basalsekret in 2 Portionen aspiriert. Anschließend erfolgte die Stimulation der Säuresekretion mit einer Histalog-Standarddosis von 50 mg Betazol²⁾.

²⁾ Betazol = 3- β -Aminoäthylpyrazoldihydrochlorid Eli Lilly GmbH., Gießen.

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Im Abstand von 15 Min. wurden insgesamt 3 Fraktionen gewonnen. Bei Gallerückfluß oder Blutbeimengungen wurde der Versuch abgebrochen. Die weitere Aufbereitung der nicht-dialysierbaren Ausgangssubstanzen des Magensaftes und Magenschleims erfolgte getrennt nach Basalsekret und dem Material nach Stimulation in folgender Weise (vgl. Schema 1): Nach Auf-

Schema 1
Gewinnung der Ausgangssubstanzen des Magenschleims und des Magensaftes



fangen der einzelnen Proben in mit Trockeneis gekühlte Gefäße wurde das Material nach Beendigung des Versuchs bis maximal 6° aufgetaut und der sichtbare visköse Schleim abzentrifugiert. Dabei läßt sich der gering visköse Magensaft vom Schleim am Boden des Glases gut abtrennen. Die noch im Magensaft verbliebenen Schleimbeimengungen, die durch Zentrifugation nicht entfernt werden konnten, wurden mit Hilfe von Membranfiltern abgetrennt (Membranfilter und Druckfiltrationsgerät der Fa. Sartorius, Göttingen. Filterdurchmesser: 100 mm, Filtertyp: SM 11304). Der abzentrifugierte Magenschleim wurde mit den Rückständen auf den Membranfiltern vereinigt, erschöpfend gegen fließendes Wasser und dest. Wasser dialysiert und anschließend lyophilisiert. Es gelang nicht, den Magenschleim völlig von Zelldetritus zu befreien, wie mikroskopische Kontrolluntersuchungen zeigten. Mengenmäßig dürften diese jedoch keine wesentliche Rolle spielen.

Der nach Druckfiltration gewonnene, wasserklare Magensaft wurde sofort mit 0,1N NaOH auf pH 7,0 eingestellt, anschließend dialysiert und lyophilisiert. Die Aufbereitung bis zur Neutralisation wurde bei 6° vorgenommen. Die Gewichte der nicht-dialysierbaren Substanzen des Magensaftes und Magenschleims wurden nach Gefriertrocknung und zusätzlicher Trocknung im Exsikkator festgelegt.

Isolierung der Glykoproteine aus dem Magensaft

Versuche, diese Isolierung mit Hilfe der Sephadex-Gel-Filtration aus der Ausgangssubstanz direkt vorzunehmen, scheiterten an der ungenügenden Löslichkeit. Wir führten daher zunächst eine Phenol-Wasser-Extraktion (16) der Glykoproteine durch, wie sie von KLENK und UHLENBRUCK (17) und UHLENBRUCK und SCHMIDT (18) zur Darstellung der Glykoproteine aus dem Ery-

throcytenstroma und von LAMBOTTE und UHLENBRUCK (19) aus Amnionflüssigkeit angegeben wurde.

50 mg der nicht-dialysierbaren Substanz des Magensaftes wurden in 20 ml 0,9proz. NaCl-Lösung gelöst, kräftig geschüttelt und anschließend mit 20 ml 90proz. Phenol-Lösung versetzt. Phenolkonzentration also 45%. Nach Schütteln und Zentrifugation während einer Stunde bildet sich ein Dreiphasensystem aus. Nach Abhebern und Dialyse sind die Glykoproteine in der Wasser- und Zwischenphase nachweisbar. Die nach Dialyse und Lyophilisierung schneeweiße Substanz ist gut wasserlöslich, so daß nunmehr gute Voraussetzungen für eine nachfolgende Sephadex-Gel-Filtration bestehen, die wir mit Sephadex G 100 durchführten. Hinsichtlich der Trennergebnisse brachten auch die Typen G 150 und G 200 keine besseren Ergebnisse. Abbildung 1 zeigt ein mit G 100 gewonnenes Kurvenbild.

Chemische Untersuchungen

Bestimmung der Säuresekretion und pH-Messung

Vom Basalsekret und der während der Stimulation gewonnenen Gesamtmenge wurden jeweils 5 ml zur Titration mit 0,1N NaOH gegen einen Mischindikator (Neutralrot-Methylenblau) mit Umschlagpunkt bei pH 7,0 entnommen. Die Säuremenge wurde als mVal/Std. berechnet. Der pH-Wert des Magensaftes wurde mit einer Glaselektrode bestimmt (pH-Meter der Fa. Pusel, München).

Untersuchungen der Kohlenhydratkomponenten

Die dünnschichtchromatographische Zuckerdifferenzierung erfolgte auf Celluloseplatten (DC-Fertigplatte, Merck AG, Darmstadt) nach dem von GRÄSSLIN und WEICKER (20) angegebenen Verfahren. Die Methylpentose Fucose wurde nach DISCHE und SHETTLES (21) und die Hexosen nach WINZLER (22) mit der Orcin-Schwefelsäuremethode bestimmt. Die Hexosaminbestimmung erfolgte nach CESSI und PILLIEGO (23). Die Neuraminsäure wurde als N-Acetyl-neuraminsäure nach SVENNERHOLM (24) bestimmt.

Bestimmung des Proteinanteils

Die Gesamtstickstoffbestimmung erfolgte nach KJELDAHL. Bei der Berechnung des Proteinwertes wurde der Stickstoffanteil des Hexosamins und der N-Acetyl-neuraminsäure in Abzug gebracht.

Ergebnisse

Wie aus den Werten der Tabelle 1 hervorgeht, bestehen die nicht-dialysierbaren Ausgangssubstanzen des Magensaftes zu einem großen Teil aus zuckerreichen Glykoproteinen. Im Basalsekret (Tab. 1a) wurden durchschnittlich 3,1% N-Acetyl-neuraminsäure; 6,2% Fucose; 20,5% Hexosen; 15,0% Hexosamin gefunden. Die Gesamtkohlenhydrate betragen durchschnittlich 41,7%, der Proteinanteil 48,9%. Die entsprechenden Untersuchungen im Magensaft nach Stimulation mit Histalog (Tab. 1b) zeigten 3,2% N-Acetyl-neuraminsäure; 5,3% Fucose; 19,6% Hexosen; 12,5% Hexosamin; 37,7% Gesamtkohlenhydrate und 50,5% Protein. Infolge der Stimulation ist also ein leichter Abfall der Fucose- und Hexosaminwerte festzustellen. Die N-Acetyl-neuraminsäure und Hexosen sind unverändert, der Proteinwert geringfügig höher. Berücksichtigt man jedoch die relativ breite Streuung um den angegebenen Mittelwert, so ist der Schluß erlaubt, daß die Stimulation der Säuresekretion auf die prozentuale Zusammensetzung der Ausgangssubstanzen im Magensaft zu keiner wesentlichen Änderung führt.

Tab. 1
Prozentuale Kohlenhydratzusammensetzung und Proteinwert (P.) des Magensaftes im Basalsekret (a) und nach Stimulation (b)
NANA = N-Acetyl-neuraminsäure, KH = Kohlenhydrate

Pat.	a. NANA	Fucose	Hexosen	Hexosamin	Gesamt-KH	P.	b. NANA	Fucose	Hexosen	Hexosamin	Gesamt-KH	P.
T. J.	2,5	6,5	19,2	13,0	37,9	43,6	2,8	7,3	22,5	13,2	42,1	53,6
B. K.	2,5	3,9	16,1	9,3	29,8	52,4	3,2	7,7	24,9	16,9	48,8	43,1
S. D.	0,7	7,5	26,7	21,1	52,0	42,1	2,4	6,6	22,9	18,3	43,0	45,6
C. H.	—	—	—	—	—	—	1,6	7,5	30,5	15,5	51,3	46,5
S. W.	3,5	10,2	22,8	19,3	50,7	47,4	—	—	—	—	—	—
M. E.	3,1	4,2	17,6	14,3	37,1	58,4	1,6	3,1	9,6	9,3	22,1	52,0
G. H.	2,5	6,0	18,3	12,4	36,2	55,3	—	—	—	—	—	—
F. A.	—	—	—	—	—	—	3,1	3,5	14,0	8,7	27,6	52,5
E. E.	5,9	4,4	22,2	25,2	55,5	38,1	6,3	4,6	22,5	18,3	49,4	45,0
D. F.	8,5	5,2	21,2	12,1	44,4	50,0	6,2	4,1	19,4	10,3	38,0	56,9
R. J.	3,5	7,9	23,3	13,6	44,4	45,6	3,8	5,6	20,3	11,8	38,7	52,8
L. E.	1,1	5,4	18,2	20,4	42,4	47,4	2,3	6,2	20,0	16,5	41,9	52,4
F. K.	0,8	6,6	26,5	24,8	55,4	40,0	—	—	—	—	—	—
D. H.	3,9	7,2	20,8	8,8	27,1	55,7	3,2	4,3	14,5	9,5	29,4	50,9
O. P.	2,2	4,6	13,5	9,6	27,6	56,8	2,6	4,5	16,7	7,0	29,6	48,8
B. F.	2,9	6,9	20,2	6,4	33,0	52,0	2,8	5,4	17,1	6,8	29,4	57,0
\bar{x}	3,1	6,2	20,5	15,0	41,7	48,9	3,2	5,3	19,6	12,5	37,7	50,5

Die im Basalsekret festgestellten Säurewerte lagen durchschnittlich bei 3,3 mVal/Std. mit einer Streubreite von 1,0—7,8 mVal/Std. Im Mittel wurde ein pH von 2,9 gemessen (1,8—6,8). Erwartungsgemäß stiegen die Säurewerte nach Stimulation an. Diese ergaben durchschnittlich 9,3 mVal/Std. (6,1—18,9). Der mittlere pH-Wert betrug 1,7 (1,4—2,3).

Die Analysen der Ausgangssubstanzen im Magenschleim im Basalsekret (Tab. 2a) erbrachten 2,6% N-Acetyl-neuraminsäure; 7,5% Fucose; 27,5% Hexosen; 19,0% Hexosamin; 52,9% Gesamtkohlenhydrate des Magenschleims und 38,4% Protein. Vergleicht man den Gesamtkohlenhydratgehalt des Magensaftes mit dem des Magenschleims, so ergibt sich im Schleim ein deutlich höherer Wert. Die Relation Gesamt-Kohlenhydrate: Protein beträgt 1:0,7, während diese im Magensaft bei 1:1 liegt, was hauptsächlich durch den größeren Gehalt an Hexosamin und Fucose im Magenschleim hervorgerufen wird. Der N-Acetyl-neuraminsäure-Gehalt liegt im Magensaft höher als im Magenschleim. Das Verhältnis von N-Acetyl-Neuraminsäure:Fucose beträgt im Magensaft 1:2 und im Magenschleim 1:2,9. Insgesamt hat auch hier die vorgenommene Stimulation keinen wesentlichen Einfluß auf die prozentuale Zusammensetzung des Magenschleims. Mit Ausnahme der N-Acetyl-neuraminsäure sind die übrigen Zucker nach der Stimulation nur geringfügig erhöht. Das Verhältnis von N-Acetyl-neuraminsäure:Fucose beträgt in beiden Fäl-

len 1:2,8. Nach Stimulation ergaben sich im Magenschleim folgende Durchschnittswerte (Tab. 2b): 2,9% N-Acetyl-neuraminsäure; 8,2% Fucose; 29,9% Hexosen; 18,8% Hexosamin; 55,7% Gesamtkohlenhydrate und 35,1% Proteine.

Im Basalsekret betrug das Volumen des Magensaftes entsprechend den auf Tab. 3a aufgeführten Einzelwerten durchschnittlich 38,0 ml/30 Min., das Gewicht der Ausgangssubstanz lag bei 23,7 mg/30 Min., die Konzentration betrug 70,2 mg/100 ml. Wie aus den auf Tab. 3b angegebenen Einzelwerten ersichtlich ist, steigt unter der Stimulation das Volumen erwartungsgemäß an, während das Gewicht und die Konzentration der nicht-dialysierbaren Ausgangssubstanzen ein gleiches Verhalten nicht erkennen lassen. Im Durchschnitt betrug nach Stimulation das Volumen 195,1 ml/120 Min., das Gewicht der Ausgangssubstanz 103,2 mg/120 Min. und dessen Konzentration 53,3 mg/100 ml. Vergleicht man die Konzentration der Ausgangssubstanz im Basalsekret mit derjenigen nach Stimulation, so zeigt sich ein Abfall von 24,1%. Es ist also hinsichtlich der nicht-dialysierbaren Substanzen eine Verdünnung des Magensaftes unter der Stimulation eingetreten bei gleichbleibender prozentualer Kohlenhydratzusammensetzung wie oben angegeben.

Aus dem Ausgangsmaterial des Magensaftes konnten wir durch Phenol-Wasser-Extraktion und nachfolgende Sephadex-Gel-Filtration (vgl. Abb. 1) ein neuramin-

Tab. 2
Prozentuale Kohlenhydratzusammensetzung und Proteinwert (P.) des Magenschleims im Basalsekret (a) und nach Stimulation (b)
NANA = N-Acetyl-Neuraminsäure, KH = Kohlenhydrate

Pat.	a. NANA	Fucose	Hexosen	Hexosamin	Gesamt-KH	P.	b. NANA	Fucose	Hexosen	Hexosamin	Gesamt-KH	P.
T. J.	1,3	9,3	31,0	19,6	56,6	43,0	1,7	10,5	29,9	27,0	63,9	34,3
B. K.	3,3	8,7	28,1	19,7	55,3	27,8	2,5	9,4	30,0	22,0	59,2	28,5
S. D.	0,4	6,8	20,2	22,5	46,5	42,8	1,0	10,1	25,1	16,9	48,2	40,0
C. H.	—	—	—	—	—	—	0,8	8,5	31,4	15,8	52,3	37,7
S. W.	3,3	11,4	25,9	17,7	52,6	35,7	—	—	—	—	—	—
M. E.	2,1	8,0	35,9	22,6	64,6	33,7	1,9	6,7	27,5	15,7	48,5	43,6
I. H.	1,7	8,6	29,9	23,5	59,4	32,8	—	—	—	—	—	—
F. A.	3,2	4,1	23,8	8,3	37,4	53,2	2,6	5,2	27,9	14,6	47,7	42,9
E. E.	5,7	6,8	26,3	26,8	62,2	34,3	7,5	7,0	31,4	18,0	60,4	29,1
D. F.	6,0	7,9	29,1	14,7	53,8	32,4	5,8	7,3	32,8	16,2	58,5	31,8
R. I.	2,2	8,9	35,0	25,8	67,5	21,6	2,6	12,3	29,7	21,0	59,5	29,0
L. E.	2,0	6,6	31,2	23,5	60,0	38,2	2,6	8,7	35,6	31,3	73,9	21,4
F. K.	0,9	6,3	25,0	21,7	50,8	37,8	—	—	—	—	—	—
D. H.	2,3	4,8	19,7	11,9	36,3	57,5	3,3	5,8	27,5	11,9	45,6	48,1
O. P.	1,8	6,5	20,4	16,7	42,2	44,4	2,3	7,0	25,7	18,1	49,6	41,3
B. F.	2,4	7,5	30,9	10,7	47,8	41,4	3,1	8,2	34,3	15,9	57,4	31,4
\bar{x}	2,6	7,5	27,5	19,0	52,9	38,4	2,9	8,2	29,9	18,8	55,7	35,1

Tab. 3

Magensaftvolumina, Gewichte und Konzentration der nicht-dialysierbaren Ausgangssubstanzen im Basalsekret (a) und nach Stimulation (b)

Pat.	a. ml/30 Min.	Gewicht (mg)	mg/100 ml	b. ml/120 Min.	Gewicht (mg)	mg/100 ml
T. I.	40	34	85	260	156,9	60,0
B. K.	34	32	94	180	175,0	97,0
S. D.	36	18	50	170	70,2	41,0
C. H.	—	—	—	100	68,0	68,0
S. W.	66	32	48	—	—	—
M. E.	24	16	67	205	152,5	74,0
J. H.	50	37	64	—	—	—
T. A.	—	—	—	190	83,0	41,0
E. E.	46	15	33	248	61,9	25,0
D. F.	60	16	27	170	70,2	41,0
R. J.	26	26	100	220	144,0	66,0
L. E.	18	24	133	160	82,5	51,0
F. K.	24	19	79	—	—	—
D. H.	46	13	28	210	92,3	44,0
O. P.	22	25	113	200	53,7	26,0
B. F.	40	25	62	224	130,9	59,0
\bar{x}	38,0 (18,0—66,0)	23,7 (13,0—37,0)	70,2 (27,0—133,0)	195,1 (100—260)	103,2 (53,7—175,0)	53,3 (25—97)

säurereiches, fucosehaltiges Glykoproteingemisch folgender Zusammensetzung isolieren: 7,2% N-Acetylneuraminsäure; 9,2% Fucose; 24,8% Hexosen; 15,5% Hexosamin; 54,1% Gesamtkohlenhydrate und 41,9%

Protein. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung (Abb. 2) zeigt, daß dieses Glykoprotein Fucose, Mannose und Galaktose enthält. Glucose konnten wir nicht nachweisen, ebenso keine Xylose und Arabinose. Eine weitere Auftrennung dieses Glykoproteins gelang nicht. Bei der Zonenelektrophorese auf Membranfolien wanderten die Glykoproteine kaum, in der Disk-Elektrophorese mit Standardgel (7,5%) blieben die Substanzen am Startpunkt liegen infolge des großen Molekulargewichtes, bei Gelverdünnungen (5%) konnte eine Wanderung von etwa 1,5 cm beobachtet werden. Die Anfärbung mit Amidoschwarz war wegen des relativ geringen Proteinanteils nur wenig deutlich, dagegen zeigte sich bei der PAS-Färbung entsprechend dem hohen Kohlenhydratgehalt eine intensive Farbe. Dieses Glykoproteingemisch war auch mit Sephadex G 200 nicht weiter zu trennen. Bei der immunologischen Testung mit bekannten Antiseren fanden wir keine Präzipitation.

Die qualitative Kohlenhydratzusammensetzung des Magenschleims ist mit der des Magensaftes identisch. Allerdings liegt der Gesamtkohlenhydratgehalt hier höher (52,9%) als im Magensaft (41,7%), was hauptsächlich durch den höheren Gehalt an Hexosen und Hexosamin bedingt ist. Aus der Ausgangssubstanz des Magenschleims konnten wir die Glykoproteine durch Phenol-Wasser-Extraktion bisher nicht isolieren, so daß auch eine Sephadex-Gel-Filtration wegen der hohen Viskosität des Magenschleims nicht vorgenommen werden konnte.

Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen, daß die im Magensekret vorkommenden großmolekularen, nicht dialysierbaren Substanzen, gleichgültig, ob sie gelöst im Magensaft oder in Form des typischen Magenschleims vorliegen, hauptsächlich kohlenhydratreiche Glykoproteine sind. Wie die Analysenergebnisse des aus dem Magensaft isolierten Glykoproteingemisches erkennen lassen, sind sowohl fucosehaltige als auch neuraminsäurehaltige Glykoproteine vorhanden, deren Molekulargewicht größer als 300000 sein muß, da die Substanzen auch bei Verwendung von Sephadex G 200 fast mit der Front eluiert

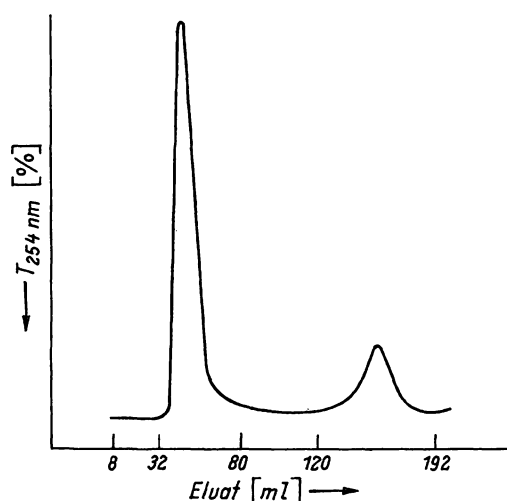


Abb. 1

Elutionsdiagramm. Reinigung des isolierten Glykoproteingemisches an Sephadex G 100. Elutionsmittel: Wasser; Säulendurchmesser: 3 cm; Gelhöhe 35 cm

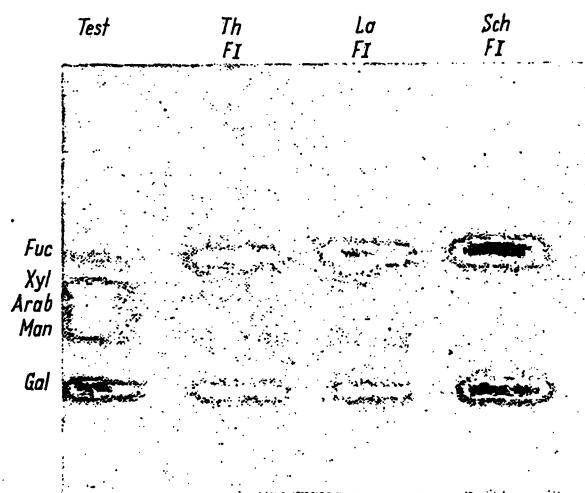


Abb. 2

Dünnschichtchromatogramm auf Cellulose (DC-Fertigplatte, Merck AG., Darmstadt). Fließmittel: t-Butanol/Methyläthylketon/Ameisensäure/Wasser = 8:6:3:3 (v/v) Laufzeit 5 Std., zweimalige Entwicklung. Detektion mit Anilinhydrogenphthalat. Isoliertes Glykoproteingemisch von 3 Patienten (Th., La., Sch.)

Zuckertest links: Fuc = Fucose, Xyl = Xylose, Arab = Arabinose, Man = Mannose, Gal = Galaktose

werden. Es ergeben sich für diese Glykoproteine gewisse Beziehungen zu anderen Glykoprotein-Präparationen des Intestinal- und Respirationstraktes sowie des Bindegewebes (25), deren Reindarstellung allerdings bislang kaum gelungen ist und die unter der wenig exakten Bezeichnung „Mucoide“ zusammengefaßt werden. Die von GLASS und Mitarbeitern (26) angegebenen „Mucopeptosen“, die chemisch ebenfalls nicht homogen sind, weisen zwar, wie unsere Präparationen, einen hohen Kohlenhydratgehalt auf, der Neuraminsäurewert liegt aber unter dem des von uns isolierten Glykoproteinkomplexes. Die Sekretion und die chemische Zusammensetzung dieser Glykoproteine wird, wie vergleichende Untersuchungen im Basalsekret und nach Stimulation der Magensekretion erkennen lassen, durch vermehrt vorhandene Säure wenig beeinflusst.

Der im Magensaft nach Stimulation zu beobachtende leichte Konzentrationsabfall der Glykoproteine zeigt an, daß das verwandte Stimulans selektiv die säurebildenden, nicht aber die schleimproduzierenden Zellen stimuliert. Die an den Ausgangssubstanzen festgestellte Kohlenhydratzusammensetzung zeigt hinsichtlich der qualitativen Befunde gute Übereinstimmung mit den u. a. von GLASS und Mitarbeitern (27); HOSKINS und ZSCHAMEK (28) sowie WALDRON-EDWARD und SKORYNA (29) mitgeteilten Ergebnissen. Allerdings lagen die Kohlenhydratwerte durchschnittlich in unserem Material höher, was möglicherweise auf die unterschiedlichen Aufbe-

reinigungsmethoden zurückzuführen ist. Entgegen anderen Angaben (30, 31) konnten wir keine Glucose nachweisen. Das Vorkommen dieses Zuckers als Bestandteil der Glykoproteine des Magensekrets ist nach HOROWITZ (32) durchaus nicht gesichert.

Neben einer Verminderung der Schleimbildung wurden auch qualitative Änderungen der schleimbildenden Glykoproteine des Magensekrets aufgrund neuerer tierexperimenteller Untersuchungen (10–15) in Zusammenhang mit der Entstehung von Magen-Darm-Ulcera unter Verabfolgung von Antirheumatica und Cortison-Derivaten angenommen.

Die hier dargelegten Befunde sollen zunächst bei einem Kollektiv magengesunder Patienten die grundsätzlichen Untersuchungsmöglichkeiten der Glykoproteine des Magensaftes und Magenschleims aufzeigen, mit deren Hilfe quantitative und qualitative Aussagen über die im Magensekret enthaltenen Glykoproteine möglich sind. Mit dieser Untersuchungsmethode konnten wir durch Vergleichsuntersuchungen bei Verabfolgung von Cortison-Derivaten quantitative und qualitative Änderungen der Glykoproteinzusammensetzung, auch beim Menschen finden, die weitere Hinweise auf die Genese des sog. Steroidulcus erbrachten. Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

Für ihre zuverlässige technische Assistenz danken wir Frau RENATE ACKERMANN.

Literatur

1. CUMMINGS, A. J., Applied anatomy and physiology of the storage in: *Gastroenterology*, Vol. I ed. by H. L. Bockus, W. B. Saunders, Philadelphia-London (1966). — 2. WEBSTER, D. R. und S. A. KOMAROV, *J. biol. Chemistry* 96, 113 (1932). — 3. BUCHER, R., *Dtsch. Z. Chir.* 236, 505 (1932). — 4. BUCHER, R., *Dtsch. Z. Chir.* 247, 603 (1936). — 5. HOLLANDER, F., *Arch. Int. Med.*, Chicago 93, 107 (1954). — 6. HEATLEY, N. G., *Gastroenterology*, Baltimore 37, 304 (1959). — 7. HEATLEY, N. G., *Gastroenterology*, Baltimore 37, 313 (1959). — 8. JANOWITZ, H. D. und F. HOLLANDER, F., *Gastroenterology*, Baltimore 26, 582 (1954). — 9. WADA, T., *Japan. J. Med.* 1, 293 (1962). — 10. MENGUY, R. und L. DESBAILLETS, *Gastroenterology*, Baltimore 54, 1257 (1968). — 11. MENGUY, R. und Y. F. MASTERS, *Surgery*, S. Louis 54, 19 (1963). — 12. MENGUY, R. und Y. F. MASTERS, *Surg. Gyn. Obstetr.* 120, 92 (1965). — 13. MENGUY, R. und L. DESBAILLETS, *Amer. J. Digest. Dis.* 12, 862 (1967). — 14. ROBERT, A., I. E. NEZAMIS und R. B. BAYER, *Fed. Proc.* 22, 663 (1963). — 15. ROBERT, A. und I. E. NEZAMIS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 114, 545 (1963). — 16. WESTPHAL, O., O. LÜDERITZ und F. BISTER, *Z. Naturforsch.* 76, 148 (1952). — 17. KLENK, E. und G. UHLENBRUCK, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 319, 151 (1960). — 18. UHLENBRUCK, G. und D. O. SCHMID, *Z. Immunit.forsch.* Jena 123, 466 (1962). — 19. LAMBOTTE, R. und G. UHLENBRUCK, *Nature*, London 212, 290 (1966). — 20. GRÄSSLIN, D. und H. WEICKER, *Clin. Chim. Acta*, Amsterdam 21, 15 (1968). — 21. DISCHE, Z. und L. B. SHETTLES, *J. biol. Chemistry* 175, 595 (1948). — 22. WINZLER, R. J., *Meth. Biochem. Analysis*, 2, 279 (1955). — 23. CESSI, C. und F. PILIEGO, *Biochem. J.* 77, 508 (1960). — 24. SVENNERHOLM, L., *Biochim. biophysica*, Amsterdam Acta 14, 604 (1957). — 25. BUDDECKE, E., *Miscellaneous Glycoproteins*. In: *Glycoproteins, their composition, structure and function* Ed. by A. Gottschalk-Elsevier Pub. Comp. Amsterdam, London, New York (1966). — 26. GLASS, G. B. J. und BOYD, L. J., *Gastroenterology*, Baltimore 12, 835 (1949). — 27. GLASS, G. B. J., M. RICH und L. STEPHANSON, *Gastroenterology*, Baltimore 34, 598 (1958). — 28. HOSKINS, L. E. und N. ZCHAMEK, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 106, 278 (1963). — 29. WALDRON-EDWARD, D. und St. C. SKORYNA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 116, 794 (1964). — 30. PREISSER, F., G. BERG und N. HENNING, *Z. Gastroenterol.* 2, 155 (1963). — 31. SCHRAGER, J., *Gut* 201, 702 (1964). — 32. HOROWITZ, M. J., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 140, 784 (1967).

Priv.-Doz. Dr. med. D. Kuhn
Professor Dr. med. H. Weicker
69 Heidelberg
Hospitalstr. 3